Nachprüfung einer neuen Methode zum beschleunigten Nachweis von Tuberkelbazillen durch den Tierversuch.

SEP 18 19

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

Hohen medizinischen Fakultät

der

Badischen Ruprecht-Karls-Universität in Heidelberg

vorgelegt von

Käthe Nagel
aus Itzehoe

Leipzig
Verlag von Johann Ambrosius Barth
1919

Gedruckt mit Genehmigung der medizinischen Fakultät der Universität Heidelberg.

Dekan:
Professor Dr. Ernst

Referent:
Professor Dr. H. Kossel

1919

Druck von Metzger & Wittig in Leipzig 573

Meinen Eltern!

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40153303_0033

Anfang der vierziger Jahre des vorigen Jahrhunderts wurde zum ersten Mal der Tierversuch von der medizinischen Wissenschaft zur Erforschung der Tuberkulose verwendet. Es handelte sich damals um die Frage der Übertragbarkeit der Tuberkulose. In den achtziger Jahren bemächtigte sich die medizinische Praxis des tuberkulösen Tierversuchs. Damsch war der erste, der im Jahre 1882 das Meerschweinchen zur Diagnose der Nierentuberkulose verwendete. Seitdem wurde der Wert des Tierversuches zur Feststellung der Tuberkulose immer mehr erkannt, besonders für diejenigen Formen, bei denen der mikroskopische Nachweis von Tuberkelbazillen selten oder garnicht gelingt. Es sind dies die Tuberkulosen der Harnwege und Genitalorgane, der serösen Höhlen und eine Anzahl chirurgischer Tuberkulosen.

Der Tierversuch ist eine absolut sichere Methode, der aber ein großer Fehler anhaftet, die lange Dauer. Vor Ablauf von 4—6 Wochen läßt sich eine sichere Diagnose nicht stellen. Und was bedeutet ein solcher Zeitverlust, wenn von dem möglichst frühzeitigen Erkennen der Krankheit ein lebensrettender chirurgischer Eingriff abhängt, wie bei der tuberkulösen Nierenerkrankung? Sind erst tuberkulöse Blasenveränderungen vorhanden, so läßt sich die Erkrankung der zweiten Niere nicht mehr mit Sicherheit ausschließen. So ist es verständlich, daß man immer wieder nach Methoden gesucht hat, um den tuberkulösen Tierversuch abzukürzen.

Damsch injizierte das Untersuchungsmaterial in die vordere Augenkammer des Kaninchens. Hier konnte man die Entstehung der Tuberkelknötchen beobachten und kam im Verlauf von 8—10 Tagen zu einer Diagnose. Die Methode führte aber durch Mischinfektion häufig zu Panophthalmie und vermochte sich deshalb nicht einzubürgern.

Nattan Larier et Griffon schlugen vor, das verdächtige Material in die Brustdrüsen laktierender Meerschweinchen zu verimpfen. Nach einigen Tagen seien die Tuberkelbazillen in der ausgedrückten Milch reichlich nachzuweisen. Aber die Beschaffung geeigneter Versuchstiere stößt in den meisten Untersuchungsämtern auf Schwierigkeiten.

Im Jahre 1907 versuchte Arthur Bloch den tuberkulösen Tierversuch dadurch abzukürzen, daß er bei Meerschweinchen eine lokale Tuberkulose der Kniefaltendrüsen hervorrief. Angeregt zu seinen Versuchen wurde er durch Vorschläge von Lydia Rabinowitsch und durch Arbeiten in gleicher Richtung von G. Salus. Bloch injizierte das verdächtige Material subkutan in die rechte Kniefaltenbeuge in der Richtung nach der Drüse. Zeigte sich diese nach einiger Zeit vergrößert, so wurde das Tier getötet, und die Drüse in Ausstrichen und Schnitten nach Tuberkelbazillen untersucht. Bei Benutzung von Reinkulturen von Tuberkelbazillen in Kochsalzaufschwemmung fand Bloch nach 9—12 Tagen in der vergrößerten Drüse reichlich Tuberkelbazillen; bei Benutzung von Sedimenten dagegen so wenig, daß sie leicht zu übersehen waren. Er modifizierte daher seine Methode in der Weise, daß er die Drüse vor der Injektion zwischen den Fingern quetschte. Es wurde ein Locus minoris resistentiae geschaffen, um ein leichteres Eindringen und eine schnellere Vermehrung der Tuberkelbazillen in dem Organ zu erzielen, statt der normaler Weise eintretenden Abschwächung. Nach Blochs Angaben fand sich

tatsächlich in den gequetschten Drüsen eine größere Menge von Tuberkelbazillen als in den ungequetschten. Bloch benutzte kleine Versuchstiere bis zu 300 g Gewicht, da bei großen Tieren die Drüsen in reichliches Fettgewebe eingebettet sind. Wird dieses gequetscht, so kommt es leicht zur Bildung von traumatischen Abszessen, in denen die Drüse vollkommen aufgehen kann. Außerdem impfte er stets ein Kontrolltier, das er leben ließ, bis es an allgemeiner Tuberkulose einging. Ungefähr gleichzeitig mit Bloch und unabhängig von ihm kam A. Weber auf den Gedanken, das tuberkulöse Material subkutan in die untere Bauchgegend des Meerschweinchens zu injizieren. Wenn die regionären Drüsen Linsengröße erreicht hatten — meist nach 10—16 Tagen — exstirpierte er sie und untersuchte sie in Schnitten auf Tuberkelbazillen.

Die Blochsche Methode wurde vielfach nachgeprüft: Joanovics, Kapsammer und Fligg kamen zu sehr guten Resultaten, während Esch und Dieterlen auf Grund ihrer Versuche ihr nicht unbedingt den Vorzug vor der alten intraperitonealen Methode zu geben vermochten. Esch sieht die Vorteile der Blochschen Methode darin, daß man das Einsetzen der Erkrankung beobachten kann, und daß die Tiere seltener an einer Mischinfektion zugrunde gehen, als bei der intraperitonealen Impfung. Als Nachteile wirft er ihr vor,

1. daß die Drüsenschwellung oft nicht spezifisch sei, — bei Einbringung von Eitererregern — ein Fehler, den Bloch selbst hervorhebt und deshalb stets die Impfung eines Kontrolltieres empfiehlt,
2. bei gleichzeitig bestehendem Infiltrat an der Injektionsstelle sei die Drüse oft nicht zu tasten,
3. die Drüsenschwellung könne bei Verimpfung von wenig Material vollkommen fehlen,
4. finde man in der exstirpierten Drüse nur wenig säurefeste Stäbchen, so sei man nicht sicher, eingebrachte Smegmabazillen vor sich zu haben.

Eine so schwerwiegende Diagnose wie die Nierentuberkulose wird man aber nur stellen, bei einem absolut eindeutigen Resultat. Also einen wesentlichen Fortschritt bedeutet die Blochsche Methode nicht, weil man in allen zweifelhaften Fällen — und das sind die meisten — doch die allgemeine Tuberkulose des Versuchstieres abwarten muß.

Kurz hinweggehen können wir über Versuche, die Oppenheimer im Jahre 1911 anstellte, um eine abkürzende Methode zu finden. Ausgehend von der Voraussetzung, daß die Leber bei der experimentellen Meerschweinchen-Tuberkulose besonders frühzeitig tuberkulöse Veränderungen aufweise, verimpfte er das Material direkt in die Leber einer Anzahl von Meerschweinchen, die er nach Ablauf einer gewissen Zeit in bestimmten Zwischenräumen tötete. Die Methode verbietet sich für die Praxis von selbst durch die Verschwendung des Versuchsmaterials. Außerdem konnte Esch die Annahme, von der Oppenheimer ausging, daß nämlich die Leber besonders tuberkuloseempfindlich sei, nicht bestätigen.

Hatte man bis jetzt durch Erfindung immer neuer Impfmethoden dem Ziele näher kommen wollen, so bewegen sich die Versuche der beiden Autoren, die in den folgenden Jahren mit neuen Ideen hervortraten, in anderer Richtung. Es sind Esch und der Amerikaner Morton.

In den Jahren 1912—14 veröffentlichte Esch seine experimentellen Untersuchungen über den beschleunigten Nachweis von Tuberkelbazillen durch den Meerschweinchenversuch. Das Ziel seiner Untersuchungen war, unter Benutzung derjenigen Impfmethode, die am schnellsten zu einer allgemeinen Propagation der Tuberkulose führt, den frühesten Zeitpunkt für die Tötung der Tiere festzustellen. Als geeignet erschien ihm dazu die intrakutane Tuberkulinreaktion, die Römer und Joseph schon seit längerer Zeit angewandt hatten, um das Inkubationsstadium und den Entwicklungsgang der Meerschweinchentuberkulose zu verfolgen. Esch ver-

impfte in einer ganzen Anzahl von Versuchsreihen das tuberkulöse Material entweder intracardial, intrahepatisch, intraperitoneal oder subkutan in die Kniefaltenbeuge. Dann machte er vom 6.—9. Tage ab in Abständen von 3 Tagen bei den Tieren die Intrakutanreaktion. In die enthaarte Bauchhaut wurden 0,02 staatlich geprüftes Alttuberkulin injiziert. Esch unterscheidet drei Reaktionsgrade:

1. Grad: Rötung und Schwellung mit nachfolgender Knötchenbildung (+),
2. Grad: Quaddelbildung ohne zentrales Blutextravasat (+ +),
3. Grad: Quaddelbildung mit zentralem Blutextravasat (+ + +).

Bei der Autopsie zeigte sich, daß nur Grad 2 und 3 einer makroskopisch erkennbaren Tuberkulose entsprachen. Der positive Ausfall der Intrakutanreaktion genügt Esch nicht, um eine so schwerwiegende Diagnose zu stellen. Er will stets die biologische Diagnose durch die anatomische erhärtet wissen. Sobald also die infizierten Meerschweinchen auf die Intrakutanreaktion mit Quaddelbildung mit oder ohne zentrales Blutextravasat reagierten, wurden sie getötet. Die Art der Verimpfung des Materials spielt nach Esch für die Beschleunigung des Versuches keine wesentliche Rolle. Bei den subkutan infizierten Tieren wurde die Intrakutanreaktion erst positiv, wenn eine generalisierte Tuberkulose vorhanden war.

Esch stellte außerdem noch vergleichende Untersuchungen an über die Empfindlichkeit tuberkulöser Meerschweinchen gegen die intrakutane und die subkutane Injektion von Tuberkulin. Bei der subkutanen Methode wurden 0,5 ccm Tuberkulin mit 1,5 ccm physiol. Kochsalzlösung verdünnt subkutan injiziert. Dann wurde 24 Stunden lang die Temperatur der Tiere gemessen. Da diese bei Meerschweinchen sehr labil ist, kamen Temperatursteigerungen nicht nur bei den infizierten, sondern auch bei den nicht infizierten Kontrolltieren zur Beobachtung, so daß Esch als positive Reaktion nur den tödlichen Ausgang ansehen konnte. Am Schluß seiner Versuche kam er zu folgenden Resultaten:

1. Die intrakutane Reaktion tritt erheblich früher auf, als die subkutane,
2. die intrakutane Reaktion ist sicherer. Sie hatte keinen einzigen Versager, die subkutane dagegen sehr viele.

Es ist ohne weiteres ersichtlich, daß die Verwendung der intrakutanen Tuberkulinreaktion im Tierversuch einen erheblichen Fortschritt bedeutet. Aber bei langsam verlaufenden Tuberkulosen dauert es doch oft recht lange, bis sie positiv wird. Außerdem ist die Beurteilung der Reaktion zuweilen recht schwierig.

Deshalb erschien es mir aussichtsreich, eine Arbeit von dem Amerikaner J. Morton nachzuprüfen, die im Oktober 1916 in dem Journal of Experimental Medicine erschien. Morton wollte durch Herabsetzung der Widerstandsfähigkeit der Versuchstiere eine schnellere Ausbreitung der Tuberkulose herbeiführen. Er kam auf diesen Gedanken durch eine 1914 von Murphy und Ellis veröffentlichte Arbeit: „Experiments on the Rôle of Lymphoid Tissue in the Resistance to Experimental Tuberculosis in Mice". Die Verff. stellten fest, daß in bestimmten Zwischenräumen wiederholte Röntgenbestrahlungen mit kleinen Dosen zu einer allmählichen Atrophie des lymphoiden Gewebes führen, ohne erhebliche Einwirkung auf andere Gewebe und auf die Gesundheit der Tiere; ferner, daß Mäuse, die man 12—14 Tage lang einer täglichen kurzen Röntgenbestrahlung aussetzt und dann tuberkulös infiziert, der Tuberkulose erheblich schneller erliegen, als nicht bestrahlte Tiere. Sie zogen daraus den Schluß, daß den Lymphozyten im Kampfe des Körpers gegen die tuberkulöse Infektion eine erhebliche Rolle zufalle.

In Anlehnung an diese Versuche setzte Morton die Meerschweinchen entweder kurz vor oder nach der Impfung mit dem tuberkulösen Material einer einmaligen Röntgenbestrahlung mit ungefähr zwei Erythemdosen aus. 7—12 Tage nach der Impfung wurden die Tiere getötet. Morton faßt das Ergebnis seiner Versuche dahin zusammen, daß es möglich sei, die Widerstandsfähigkeit der Meerschweinchen gegen Tuberkulose durch eine einmalige Röntgenbestrahlung erheblich herabzusetzen. Während bei Benutzung normaler Meerschweinchen der Versuch

5—7 Wochen erfordere, lasse sich bei Verimpfung des Materials auf röntgenbestrahlte Tiere die Diagnose schon nach 8—10 Tagen stellen.

Eine Nachprüfung dieser amerikanischen Arbeit erschien mir um so aussichtsreicher, als von verschiedenen Seiten über erhebliche Schädigungen des lymphozytären Apparates bei Tieren durch Röntgenstrahlen berichtet worden ist. So in der Arbeit von Heineke: „Experimentelle Untersuchungen über Einwirkung der Röntgenstrahlen auf innere Organe“ und neuerdings in den Veröffentlichungen von E. Fraenkel und W. Budde: „Histologische, zytologische und serologische Untersuchungen bei röntgenbestrahlten Meerschweinchen“. Heineke berichtet, daß nach mehrstündiger Bestrahlung von Meerschweinchen in der Milz die Malpighischen Körperchen fast vollkommen fehlten. Sie waren ersetzt durch spindelige Bindegewebszellen in kreisförmiger Anordnung und durch epitheloide Zellen. Die Lymphdrüsen und Darmfollikel erschienen in Schnitten wie ausgepinselt, weil die Lymphozyten fast vollkommen fehlten. Das zerstörte lymphoide Gewebe regenerierte sich, selbst wenn die Zerstörung eine vollkommene war. Heineke fand in seinen Versuchen, daß die Regeneration schon 8—10 Tage nach der Bestrahlung einsetzte und nach 4—6 Wochen vollendet war.

Fraenkel stellte außer den histologischen noch zytologische Untersuchungen an. Er konnte stets eine erhebliche Leukopenie konstatieren — oft nach anfänglicher Leukozytose. Das relative Verhalten der weißen Blutkörperchen war derart, daß im Beginn der Schädigung die Lymphozyten an Zahl überwogen, später aber schneller aus dem Blute verschwanden, als die mehrkernigen Leukozyten. Zwischen der Schwere der histologischen Veränderungen und dem Verhalten des Blutbildes bestanden enge Beziehungen.

Eigene Versuche.

Ich ging bei meinen Versuchen in der Weise vor, daß ich zunächst in einem Vorversuch die mit dem Weiterleben der Tiere gerade noch vereinbare maximale Bestrahlungsdosis feststellte und gleichzeitig die durch die Bestrahlung in dem Blutbild hervorgerufenen Veränderungen beobachtete. Aus den Versuchen von Fraenkel und der Arbeit von Morton ergab sich, daß die in Betracht kommende Dosis ungefähr 10X war. Es wurden also, wie die Übersicht in den Tabellen zeigt, 6 Meerschweinchen im Gewichte von 300—364 g — ältere Tiere reagieren nach Heineke weniger gut als junge — einer Röntgentiefenbestrahlung mit 1—4 Erythemdosen ausgesetzt. Je zwei Tiere kamen dazu in einen oben offenen Kasten, der durch einige Mullbindentouren verschlossen wurde. Der Kasten war gerade groß genug, um zwei Tiere aufzunehmen, gestattete ihnen aber keine erhebliche Bewegungsfreiheit. Vor der Bestrahlung und im Verlauf der fünf Wochen dauernden Beobachtung wurde die Zahl der weißen Blutkörperchen bestimmt und Differentialzählungen ausgeführt. Außerdem wurde das Gewicht der Tiere kontrolliert. Letzteres zeigte eine erhebliche Abnahme, die auch Heineke bei seinen Versuchen nachweisen konnte. Das Blutbild zeigte eine Leukopenie, die nach 6—9 Tagen ihren Höhepunkt erreichte. Dann setzte ein langsames Ansteigen der Leukozytenzahl ein. Die normale Leukozytenzahl der Meerschweinchen von 12—15000 sank bei den mit 1 und $1^1/_2$ Erythemdosen bestrahlten Tieren auf 6—7000, bei den mit 2, $2^1/_2$ und 3 Erythemdosen bestrahlten auf ungefähr 4000; bei dem mit 4 Erythemdosen bestrahlten Tier sogar auf 1700. Also eine ganz erhebliche Beeinflussung, steigend mit der Größe der Bestrahlungsdosis. Prozentualiter fand sich ein Überwiegen der Lymphozyten. Von den 6 Versuchstieren starben 3, die mit $2^1/_2$, 3 und 4 Erythemdosen bestrahlten. Es zeigte sich also, daß für Meerschweinchen 2 Erythemdosen die maximale Einzeldosis darstellen.

Tabelle I.

Untersuchungsbefund vor der Bestrahlung.

Meerschwein Nr.	Gewicht g	Leukozyten	Differentialzählung: Polynukleäre %	Lymphozyten %	Mononukleäre %	Übergangszellen %	Mastzellen %
206	302	12200	45½	51	1	2	½
227	345	14500	50	45	2	2	1
211	333	12100	48	47	2	2	1
17	334	14300	43	54	2	2	1
207	344	14260	58	37	3	2	0
18	364	15200	51	47	½	1½	0

1. Hauptversuch (Tabelle III).

Somit konnte zum ersten Hauptversuch übergegangen werden. 7 Meerschweinchen im Gewichte von 320—420 g wurden mit 2 Erythemdosen bestrahlt und am nächsten Tage zusammen mit 5 unbestrahlten Kontrolltieren mit je 1 mg humaner Tuberkelbazillen-Reinkultur in die linke Kniefaltenbeuge injiziert. Die Tuberkelbazillen waren auf Dorsét-Nährboden aus der Milz eines tuberkulösen Meerschweinchens gezüchtet. Die Impfung in die Kniefaltenbeuge wurde gewählt, um den Verlauf der Tuberkulose besser beobachten zu können. Infolge der Schädigung des lymphatischen Systems wäre bei dem bestrahlten Tiere eine allgemeine Tuberkulose zu erwarten gewesen, zu einer Zeit, wo bei den unbestrahlten erst eine Drüsentuberkulose vorhanden war. Die Tiere wurden täglich gewogen und auf Drüsenschwellungen untersucht. Dabei war kein deutlicher Unterschied zwischen bestrahlten und unbestrahlten Tieren wahrzunehmen. 6 Tage nach der Bestrahlung wurden bei den bestrahlten Tieren die Leukozyten gezählt. Es zeigte sich eine deutliche Leukopenie. Vom 9. Tage ab wurden die Tiere — meist ein bestrahltes und ein Kontrolltier gleichzeitig — in regelmäßigen Zwischenräumen getötet. Tabelle 3 gibt einen kurzen Überblick über das Ergebnis des Versuches. Meerschweinchen Nr. 121 und 118 starben am 9. und 10. Tage nach der Impfung an Pneumonie. Die Milz dieser beiden und des Kontrolltieres war zwar vergrößert, sonst aber makroskopisch nicht wesentlich verändert. Die Tuberkulose der regionären Drüsen war durch Vergrößerung und mikroskopischen Befund deutlich nachweisbar. Die übrigen Organe ohne spezifischen Befund. Es zeigte sich kein Unterschied zwischen den bestrahlten und dem unbestrahlten Tier. Vom 16. Tage ab war die Tuberkulose der Milz bei beiden Tieren makroskopisch deutlich sichtbar. Wie sich aus nachstehender Tabelle ergibt, entwickelte sich auch im weiteren Verlaufe des Versuches kein Unterschied in dem Fortschreiten der Tuberkulose bei Versuchs- und Kontrolltieren. Stets waren die Veränderungen bei beiden Tieren gleichmäßig fortgeschritten.

2. Hauptversuch (Tabelle IV).

Der zweite Hauptversuch, dessen Ergebnis in Tabelle IV niedergelegt ist, wurde in der Weise modifiziert, daß die Tiere einer intensiveren Röntgenbestrahlung ausgesetzt und eine etwas geringere Menge von Tuberkelbazillen intraperitoneal verimpft wurde. Die Einzeldosis konnte bei der Bestrahlung wegen der Lebensgefahr nicht größer gewählt werden. Die Tiere mußten also zweimal bestrahlt werden mit je zwei Erythemdosen. Zwischen beiden Bestrahlungen war eine Pause von 6 Tagen. Das Blutbild zeigte eine erheblich stärkere Beeinflussung. Die Zahl der Leukozyten war 6 Tage nach der zweiten Bestrahlung auf 1100—1800 gesunken. Bei den Meerschweinchen Nr. 42 und Nr. 106 wurde nur die erste Blutuntersuchung 6 Tage nach der ersten Bestrahlung ausgeführt, da sie vor dem 12. Tage zur Sektion

Tabelle II. Untersuchungsbefund nach der Bestrahlung.

Meerschwein Nr.	Eryth. Dosen	2Std. nch. der Bestrahlung Leukozyten	24 Stunden nach der Bestrahlung Leukozyten	Polynukleäre %	Lymphozyten %	Mononukleäre %	Übergangszell. %	Mastzellen %	2Tg. nach der Bestrahlung Leukozyten	3Tg. nach der Bestrahlung Leukozyten	4 Tage nach der Bestrahlung Leukozyten	Polynukleäre %	Lymphozyten %	Mononukleäre %	Übergangszell. %	Mastzellen %
206	1	15600	8850	44	43½	1	1	1	11450	9750	8200	52	46	1	1	0
227	1½	12200	8700	31	65	1	1	2	8200	7200	6400	41	55	1	2	1
211	2	11050	7450	41	57	0	2	0	8000	7950	6350	67	32	½	½	0
17	2½	14100	6400	52	45	1	2	0	14600	9850	6000	53	43	1½	1½	1
207	3	14900	19600	61	36	1	1½	½	17350	9650	7500	63	34	1	2	0
18	4	8100	8930	72	32	2	3	1	9450	4600	4450	52	45	1	2	0

Tabelle II (Fortsetzung). Untersuchungsbefund nach der Bestrahlung.

Meerschwein Nr.	6 Tage nach der Bestrahlung Leukozyten	Polynukleäre %	Lymphozyten %	Mononukleäre %	Übergangszellen %	Mastzellen %	9 Tage nach der Bestrahlung Leukozyten	Polynukleäre %	Lymphozyten %	Mononukleäre %	Übergangszellen %	Mastzellen %	13 Tg. nach der Bestrahlung Leukozyten
206	6600	47	46	2	4½	½	10350	33	64	1	1½	½	11300
227	6350	14	83	1	2	0	6900	27	68	2	2	1	4100
211	3150	31	64	2	2	1	4100	30	64	2	4	0	5500
17	5400	9½	87	1	2½	0	4200	18	78	2	2	0	3350
207	2500	14	80	1	5	0	3800	32	65	1	2	0	+
18	1950	46	47	2	4	1	1700	10	85	2	3	0	11050

Tabelle II (Fortsetzung). Untersuchungsbefund nach der Bestrahlung.

Meerschwein Nr.	16 Tage nach der Bestrahlung Leukozyten	Polynukleäre %	Lymphozyten %	Mononukleäre %	Übergangszell. %	Mastzellen %	20 Tg. n. der Bestrahlung Leukozyten	24 Tage nach der Bestrahlung Leukozyten	Polynukleäre %	Lymphozyten %	Mononukleäre %	Übergangszell. %	Mastzellen %	28 Tg. n. der Bestrahlung Leukozyten	31 Tg. n. der Bestrahlung Leukozyten	35 Tg. n. der Bestrahlung Leukozyten
206	7600	51	45	2	2	0	14500	14800	60	37	1	2	0	17530	18000	37250
227	8950	48	49	1	2	0	10900	11450	65	28	1	1½	½	12200	11200	13400
211	6900	41	56	1	1½	½	10260	15200	55	42	1	2	0	10900	8450	11350
17	9860	41	55½	1	2	½	+									
18	11050	+														

Tabelle III.

Meerschw. Nr.	Erythemdosen	Impfung mg-Tbc.-Bac. Reinkultur	Leukozyt. 6 Tg. nach der Bestrahlung	Tod	Sektionsergebnis	
					Versuchstier	Kontrolltier
121	2	1	14400	9 Tage nach der Impfung	L.K. + Netz — Milz — Gew. 320 mg Leber — Lungen —	— — — — —
118	2	1	4150	10 Tage nach der Impfung	L.K. + Netz — Milz — Gew. 420 mg Leber — Lungen —	L.K. + Netz — Milz — Gew. 380 mg Leber — Lungen —
210	2	1	3800	13 Tage nach der Impfung	L.K. + Netz ? Milz + Gew. 550 mg Leber — Lungen —	— — — — —
230	2	1	12800	16 Tage nach der Impfung	L.K. + + Netz — Milz + + + Gew. 1420 mg Leber + Lungen —	L.K. + + Netz + Milz + + + Gew. 700 mg Leber — Lungen —
104	2	1	5000	19 Tage nach der Impfung	L.K. + + Netz + Milz + + + Gew. 1050 mg Leber + + + Lungen +	L.K. + + Netz + Milz + + + Gew. 1070 mg Leber + + Lungen +
122	2	1	2800	23 Tage nach der Impfung	L.K. + + Netz + + Milz + + Gew. 550 mg Leber + + Lungen +	L.K. + + Netz + + Milz + + + Gew. 1500 mg Leber + + + Lungen + +
213	2	1	3400	27 Tage nach der Impfung	L.K. + + Netz + + Milz + + + Gew. 620 mg Leber + + + Lungen + +	L.K. + + Netz + + Milz + + + Gew. 950 mg Leber + + + Lungen + +

Bezeichnungen.

Linke Kniefaltendrüse = L.K.
Vergrößerg. u. Verhärtg. = +
Vergrößerg. u. Verkäsung = + +

Netz:
Einz. Tbc.-Knötchen = +
Zahlr. Tbc.-Knötchen = + +

Milz:
Granulierte Oberfläche = +
Einzelne Tbc.-Knötch. = + +
Zahlr. Tbc.-Knötchen = + + +

Leber:
Einzelne gelbe Flecken = +
Deutliche Tuberkel = + +
Zahlr. Tuberkel = + + +

Lungen:
Einzelne Tuberkel = +
Zahlreiche Tuberkel = + +

Tabelle IV.

Meerschw. Nr.	Erythemdosen	Impfung mg-Tbc.-Bac. Reinkultur	Leukozyt. 6 Tg. nach der 2. Bestrahlung	Tod	Sektionsergebnis	
					Versuchstier	Kontrolltier
42	2 × 2	1/4	? (6 Tg. n. d. 1. Bestrahl. 2400)	7 Tage nach der Impfung	Netz + + Milz — Gew. 340 mg Leber — Lungen —	— — — —
106	2 × 2	1/4	? (6 Tg. n. d. 1. Bestrahl. 4050)	10 Tage nach der Impfung	Netz + + Milz + + Gew. 450 mg Leber — Lungen —	Netz — Milz + Gew. 400 mg Leber — Lungen —
124	2 × 2	1/4	1100	13 Tage nach der Impfung	Netz + + Milz + + Gew. 500 mg Leber + + Lungen —	Netz + + Milz + Gew. 480 mg Leber + Lungen —
50	2 × 2	1/4	1800	15 Tage nach der Impfung	Netz + + Milz + + + Gew. 640 mg Leber + + Lungen +	Netz + + Milz + + Gew. 550 mg Leber + Lungen —
103	2 × 2	1/4	1400	18 Tage nach der Impfung	Netz + + Milz + + + Gew. 1300 mg Leber + + Lungen +	Netz + + Milz + + + Gew. 700 mg Leber + + Lungen +
48	2 × 2	1/4	7200	21 Tage nach der Impfung	Netz + + Milz + + Gew. 750 mg Leber + + Lungen +	— — — —
44	2 × 2	1/4	1150	25 Tage nach der Impfung	Netz + + Milz + + Gew. 3750 mg Leber + Lungen + +	Netz + + Milz + + + Gew. 1050 mg Leber + + + Lungen + +

Bezeichnungen.

Netz:
Einzelne Tbc.-Knötchen = +
Zahlreiche Tbc.-Knötchen = + +

Milz:
Granulierte Oberfläche = +
Einzelne Tbc.-Knötchen = + +
Zahlreiche Tbc.-Knötchen = + + +

Leber:
Einzelne gelbe Flecken = +
Deutliche Tuberkel = + +
Zahlreiche Tuberkel = + + +

Lungen:
Einzelne Tuberkel = +
Zahlreiche Tuberkel = + +

kamen. Die höhere Leukozytenzahl beim Meerschwein Nr. 48 ist vielleicht mit einer interkurrenten Infektion in Zusammenhang zu bringen. Die Blutuntersuchung wurde 6 Tage nach der Bestrahlung ausgeführt, weil sich durch den Vorversuch ergeben hatte, daß zwischen dem 6. und dem 9. Tage das Blut die niedrigsten Leukozytenzahlen aufwies.

Für den zweiten Versuch wurden 12 Meerschweinchen verwendet im Gewichte von 300—380 g. 7 Tiere wurden bestrahlt, 5 blieben unbestrahlt. Am Tage nach der ersten Bestrahlung wurden Versuchs- und Kontrolltiere mit je 1/4 mg Tuberkelbazillen-Reinkultur intraperitoneal geimpft. Die Tiere wurden täglich gewogen und vom 7. Tage nach der Impfung ab in bestimmten Zwischenräumen getötet. Bei den bestrahlten Tieren war vom 10. Tage ab eine deutliche Tuberkulose der Milz vorhanden; bei den unbestrahlten erst vom 15. Tage ab. Das Milzgewicht der Kontrolltiere zeigte während des ganzen Versuches etwas niedrigere Werte als das der bestrahlten Tiere. Auch in bezug auf die Tuberkulose der übrigen Organe schien im Anfang des Versuches eine leichte Differenz vorhanden zu sein. Ich verweise auf Tabelle IV.

3. Hauptversuch (Tabelle V).

Die leichte Differenz in dem Fortschreiten der Tuberkulose bei den bestrahlten und den unbestrahlten Tieren im Anfang des 2. Versuches ermutigte mich zu einem 3. Versuch. Eine noch stärkere Schädigung der Tiere durch mehr als zweimalige Bestrahlung ist allerdings in der Praxis ausgeschlossen und wurde deshalb von uns abgelehnt. Aber die Ausbreitung der Tuberkulose ist nicht nur abhängig von der Widerstandsfähigkeit der Tiere, sondern auch von der Menge und der Virulenz der eingebrachten Bakterien. Wenn man diesen letzten Faktor berücksichtigte, konnte man vielleicht dem Ziele näher kommen. Für den 3. Versuch wurden wieder 12 Tiere im Gewichte von 290—370 g angesetzt. Davon wurden 5 als Kontrolltiere verwendet, 7 wurden mit 2 mal 2 Erythemdosen bestrahlt. Zwischen beiden Bestrahlungen wurde wieder eine 6 tägige Pause gelassen. Am Tage nach der ersten Bestrahlung wurden sämtliche Tiere mit einer Kochsalzaufschwemmung, die nur ganz geringe Mengen von Tuberkelbazillen enthielt, intraperitoneal injiziert. Die Aufschwemmung wurde in der Weise hergestellt, daß Tuberkelbazillen — auf Dorset-Nährböden gewachsen — in etwas steriler physiologischer Kochsalzlösung verrieben wurden. Diese Aufschwemmung wurde mit 15 ccm Kochsalzlösung verdünnt; dann durch Zentrifugieren von dem größten Teil der Tuberkelbazillen befreit; der Rest noch einmal auf die Hälfte verdünnt. In dem mikroskopischen Präparat der jetzt vollkommen klaren Aufschwemmung fanden sich Tuberkelbazillen in ganz spärlicher Zahl. Um einen weiteren Anhaltspunkt für die Stärke der Infektion zu gewinnen, wurde das Meerschwein Nr. 112 nicht getötet. Es ging 10 Wochen nach der Impfung spontan an Tuberkulose ein. Von der Aufschwemmung wurde jedem Tier 1 ccm intraperitoneal injiziert. Der weitere Verlauf des Versuches gestaltete sich analog den beiden ersten Versuchen. Die Tiere wurden täglich gewogen und untersucht und vom 13. Tage nach der Impfung ab in bestimmten Zwischenräumen getötet. 22 Tage nach der Impfung war eine deutliche Tuberkulose der Milz bei Versuchs- und Kontrolltier nachweisbar, bei beiden in gleichem Maße. Nach 27 Tagen zeigte auch die Leber deutliche Tuberkel, ebenfalls bei beiden Tieren. Die Lungen waren noch nach 32 Tagen frei von Tuberkulose. Ein Blick auf Tabelle V zeigt, daß ein Unterschied zwischen bestrahlten und unbestrahlten Tieren sich nicht entwickelte.

Zusammenfassung.

Fassen wir die Ergebnisse unserer Versuche zusammen, so finden wir, daß es zwar gelingt, durch Röntgenbestrahlung eine erhebliche Leukopenie bei den Meerschweinchen hervorzurufen, die nach Versuchen von Fraenkel und Budde auf eine entsprechende Schädigung des lymphatischen Apparates schließen läßt.

Tabelle V.

Meerschw. Nr.	Erythemdosen	Leukozyt. 6 Tg. nach der 2. Bestrahlung	Tod	Sektionsergebnis	
				Versuchstier	Kontrolltier
119	2 × 2	2200	13 Tage nach der Impfung	Netz + Milz — Gew. 280 mg Leber — Lungen —	Netz + + Milz — Gew. 300 mg Leber — Lungen —
113	2 × 2	3240	19 Tage nach der Impfung	Netz + + Milz + + Gew. 470 mg Leber — Lungen —	Netz + + Milz + Gew. 410 mg Leber — Lungen —
222	2 × 2	1600	22 Tage nach der Impfung	Netz + + Milz + + Gew. 560 mg Leber + Lungen —	Netz + + Milz + + Gew. 520 mg Leber — Lungen —
73	2 × 2	1260	27 Tage nach der Impfung	Netz + Milz + + + Gew. 520 mg Leber + + Lungen —	Netz + + Milz + + + Gew. 640 mg Leber + + Lungen —
114	2 × 2	1520	32 Tage nach der Impfung	Netz + + Milz + + + Gew. 590 mg Leber + + + Lungen —	Netz + + Milz + + Gew. 430 mg Leber + + Lungen —
112	2 × 2	1700	69 Tage nach der Impfung	Netz + + Milz + + + Gew. 820 mg Leber + + + Lungen +	— — — —

Bezeichnungen.

Netz:	Milz:	Leber:	Lungen:
Einzelne Tbc.-Knötchen = +	Granulierte Oberfläche = +	Einzelne gelbe Flecken = +	Einzelne Tuberkel = +
Zahlreiche Tbc.-Knötchen = + +	Einzelne Tbc.-Knötchen = + +	Deutliche Tuberkel = + +	Zahlreiche Tuberkel = + +
	Zahlreiche Tbc.-Knötchen = + + +	Zahlreiche Tuberkel = + + +	

Aber es ist nicht möglich, durch Bestrahlung mit 2 mal 2 Erythemdosen die Widerstandsfähigkeit der Tiere gegen Tuberkulose herabzusetzen. Wenn Morton zu einem anderen Resultat kam, so liegt das wohl daran, daß er, wie sich aus seiner tabellarischen Übersicht ergibt, entweder überhaupt kein Kontrolltier verwendete, oder das Kontrolltier nicht gleichzeitig mit dem Versuchstier tötete. Auch wir fanden bei entsprechend starker Infektion am 10.—13. Tage eine deutlich nachweisbare Tuberkulose, aber in gleicher Weise bei Kontroll- und Versuchstieren.

Somit ist sicher, daß die Mortonsche Methode nicht verwendbar ist, so daß wir uns mit den bisherigen Methoden des tierexperimentellen Tuberkulosenachweises weiter behelfen müssen.

Literatur.

Beitzke, H., Über den Verlauf der Impftuberkulose beim Meerschweinchen. Berl. klin. Wchschr. 1907, Nr. 2.

Bloch, A., Über den beschleunigten Nachweis der Tuberkelbazillen im Urin durch den Tierversuch. Berl. klin. Wchschr. 1907, Nr. 51.

— Ein rascher Nachweis des Tuberkelbazillus im Urin durch den Tierversuch. Münch. med. Wchschr. 1910, Nr. 48.

Conradi, E., Tuberkulose-Nachweis im Tierversuch mit Hilfe der Pirquetschen Reaktion. Münch. med. Wchschr. 1913, Nr. 29.

Damsch, Die Impfbarkeit der Tuberkulose als diagnostisches Hilfsmittel bei Urogenitalerkrankungen. Dtsch. Arch. f. klin. Medizin 1882, Bd. 31.

Esch, P., Die Anwendung der intrakutanen Tuberkulinreaktion als Hilfsmittel zum beschleunigten Nachweis von Tuberkelbazillen durch den Tierversuch. Münch. med. Wchschr. 1912, Nr. 39.

— Experimentelle Untersuchungen über den beschleunigten Nachweis von Tuberkelbazillen durch den Meerschweinchenversuch. Mittlg. aus d. Grenzgeb. d. Med. u. Chir. 1913, Bd. 25.

— Zur Frage des Tuberkulosenachweises durch den beschleunigten Tierversuch. Münch. med. Wchschr. 1913, Nr. 4.

— Verdient die kutane oder die intrakutane Tuberkulinreaktion den Vorzug beim Tuberkulosenachweis durch den Meerschweinchenversuch? Münch. med. Wchschr. 1914, Nr. 18.

Fraenkel, E. und Budde, W., Histolog., zytologische und serologische Untersuchungen bei röntgenbestrahlten Meerschweinchen. Fortschr. a. d. Geb. der Röntgenstrahlen 1913, Bd. 20.

Graetz, Fr., Die Bedeutung der intrakutanen Tuberkulinreaktion nach Römer-Esch für d. frühzeitige Feststellung d. Impftuberkulose d. Meerschweinchens, unter besond. Berücksichtigung d. diagnostischen Tierversuchs b. d. menschlichen Tuberkulose. Beitr. z. klin. Tub., Bd. 36.

Heineke, Experimentelle Untersuchungen über d. Einwirkung d. Röntgenstrahlen auf innere Organe. Fortschr. auf d. Gebiete d. Röntgenstrahlen.

Jacobi, M. und Meyer, N., Die subkutane Tuberkulininjektion als Mittel zur Diagnose des Tuberkelbazillus im Tierversuch. Beitr. zur klin. Tuberkulose 1911, Bd. 20.

Joanovics, G. und Kapsammer, G., Untersuchungen über die Verwertbarkeit neuer Methoden zur Diagnose der Tuberkulose im Tierversuch. Berl. klin. Wchschr. 1911, Nr. 45.

Kleins, M., Über neuere Methoden des Tuberkulosenachweises. Arch. f. Hygiene, Bd. 82, Heft 3 u. 4.

Klebs, E., Über die Entstehung d. Tuberkulose und ihre Verbreitung im Körper. Virchows Arch. f. pathol. Anatomie 1868.

Lewitzky, W., Zur Beschleunigung d. Tuberkulose-Diagnose nach dem Verfahren von A. Bloch. Zeitschr. f. Tuberkulose 1910, Bd. 15.

Mendel, F., Über intrakutane Tuberkulinanwendung zu diagnostischen Zwecken. Med. Klin. 1908, Nr. 12.

Morton, J., A Rapid Method for The Diagnosis of Renal Tuberculosis By The Use of The X-Rayed Guinea Pig. The Journal of Experimental Medicine, 1916, Vol. 24.

Murphy, J. and Ellis, A., Experiments on the Rôle of Lymphoid Tissue in the Resistance to Experimental Tuberculosis in Mice. The Journal of Experimental Medicine, 1914, Vol. 20.

Oppenheimer, R., Tuberkulose-Nachweis durch beschleunigten Tierversuch. Münch. med. Wchschr. 1911, Nr. 41.

Pappenheim, A., Befunde von Smegma-Bazillen im menschlichen Auswurf. Berl. klin. Wchschr. 1898, Nr. 37.

Rabinowitsch, L., Befunde von säurefesten tuberkelbazillenähnlichen Stäbchen bei Lungengangrän. Dtsch. med. Wchschr. 1900, Nr. 16.

Roemer, P. H. und Joseph, K., Prognose und Inkubat. Stadium bei experimenteller Meerschweinchen-Tuberkulose. Berl. klin. Wchschr. 1909, Nr. 28.

— Zur Verwertung der Intrakutanreaktion auf Tuberkulin. Beitr. z. Klin. d. Tuberkulose, 1909, Bd. 14.

Roemer, P. H., Über intrakutane Tuberkulinanwendung zu diagnost. Zwecken. Beitr. z. Klin. d. Tub., Bd. 12.

Selter, H., Der Wert d. intrakutanen Tuberkulinreaktion bei Meerschweinchen-Tuberkulose. Dtsch. med. Wchschr. 1906, Nr. 3.

Weber, A., Der Tierversuch bei der Diagnose tuberkulöser Erkrankungen. Münch. med. Wchschr. 1908, Nr. 7.

Dem Leiter der bakteriologischen Abteilung des städtischen Rudolf-Virchow-Krankenhauses, Herrn Dr. Meyer, sage ich für Rat und Unterstützung bei den Versuchen meinen besten Dank.

Lebenslauf.

Am 19. November 1883 wurde ich, Käthe Nagel, als Tochter des Hofbesitzers Wilhelm Nagel und seiner Frau Auguste, geb. Egge, in Großwisch geboren. Ich besuchte die Schule in Großwisch und in Wandsbek und das Lehrerinnenseminar in Lübeck. Nach Vorbereitung auf den „Realgymnasialkursen für Frauen“ in Berlin erlangte ich im Herbst 1910 am Realgymnasium in Itzehoe das Reifezeugnis. Dann widmete ich mich dem medizinischen Studium in Berlin, Genf, Kiel, München und Heidelberg. Im März 1913 bestand ich in Berlin das medizinische Vorexamen; im Juni 1916 in Heidelberg das medizinische Staatsexamen. Während des praktischen Jahres arbeitete ich am städtischen Rudolf-Virchow-Krankenhaus in Berlin. Dann war ich ein halbes Jahr am Krankenhaus für Haut- und Geschlechtskrankheiten in Charlottenburg als Volontärassistentin tätig. Seit dem 1. April 1918 bin ich Assistentin der Universitätskinderklinik in Jena.